

DIVERSIDAD BACTERIANA EN AGUAS MINEROMEDICINALES DEL BALNEARIO “URAUCO”. PICHINCHA. ECUADOR.

BACTERIAL BIODIVERSITY IN MINEROMEDICINAL WATERS OF SPA “URAUCO”. PICHINCHA. ECUADOR

Félix Andueza Leal^{1,4}; Judith Araque^{1,4}; Yonathan Parra¹; Susana Arciniegas^{1,5}; Rolando Guaila²; Sandra Escobar²; Gerardo Medina^{3,4}

¹Universidad Central del Ecuador. Quito Ecuador. ; ²Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Riobamba. Ecuador. ; ³Universidad Estatal Amazónica. Puyo. Ecuador.; ⁴Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela.

⁵Universidad Politécnica de Madrid. Madrid. España.

*corresponding author: fdandueza@uce.edu.ec

Sent: February 1, 2020 | Reviewed: March 1, 2020 | Accepted: March 15, 2020. | Language of Manuscript: Spanish

DOI: 10.15568/anranf.2020.89.or01

An Real Acad Farm Vol. 86. Nº 1 (2020) · pp. 19 - 28

ORIGINAL

RESUMEN

La presencia de manantiales de aguas mineromedicinales en Ecuador se encuentra en relación con el gran número de volcanes que existen en el país, los cuales se han venido utilizando desde épocas remotas como medicamentos por la población. Sin embargo, se desconoce cuál es la biodiversidad bacteriana presente. Por ello, el objetivo del trabajo fue determinar la biodiversidad bacteriana de las aguas mineromedicinales del balneario “Urauco” ubicado en la Provincia de Pichincha. Ecuador. Se tomaron muestras de agua de un volumen de 1 litro en dos puntos del balneario. Los muestreos se realizaron en 2 ocasiones durante un periodo de dos años. Para la toma y transporte de las muestras se siguieron las normas ecuatorianas INEN 2 176-98 y INEN 2 169-98. Para la determinación de la biodiversidad bacteriana se utilizó las técnicas de siembra, selección e identificación de bacterias indicadas por Barrow y Felton (2004) y MacFaddin (2004), complementadas con las pruebas bioquímicas contenidas en las galerías API (BioMérieux) y galería Microgen (Microgen corp.). Los resultados señalan una población de bacterias heterótrofas en las aguas del balneario de $3,1 \times 10^2$ UFC/mL, con la prevalencia de las bacterias Gram negativa de la clase Gamma Proteobacterias. Se pudo aislar e identificar 64 colonias de bacterias. Los géneros de bacterias encontrados fueron *Acidovorax*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Budvicia*, *Citrobacter*, *Corynebacterium*, *Edwardsiella*, *Enterococcus*, *Ewingella*, *Flavobacterium*, *Kurthia*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Ralstonia*, *Staphylococcus*, *Vibrio* y *Yakonella*. La biodiversidad bacteriana observada fue alta, aunque escasa en número de individuos.

ABSTRACT

*The presence of mineromedicinal water springs in Ecuador is related to the large number of volcanoes that exist in the country, which have been used since ancient times as medicines by the population. However, it is unknown what bacterial biodiversity is present. Therefore, the objective of these work was to determine the bacterial biodiversity of the mineromedicinal waters of “Urauco” spa located in Pichincha Provinces of Ecuador. Water samples of a volume of 1 liter were taken at two points in each spa studied. Sampling was done 2 times over a period of two year. To take and transport the samples, the Ecuadorian standards INEN 2 176-98 and INEN 2 169-98 were followed. For the determination of bacterial biodiversity, the techniques of planting, selection and identification of bacteria indicated by Barrow and Felton (2004) and MacFaddin (2004) were used, complemented with the biochemical tests contained in the API (BioMérieux) galleries and Microgen (Microgen corp.). The results indicate a population of heterotrophic bacteria in the spa waters of 3.1×10^2 CFU / mL, with the prevalence of Gram negative bacteria of the Gamma Proteobacteria class. It was possible to isolate and identify 64 colonies of bacteria. The genera of bacteria were *Acidovorax*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Budvicia*, *Citrobacter*, *Corynebacterium*, *Edwardsiella*, *Enterococcus*, *Ewingella*, *Flavobacterium*, *Kurthia*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Ralstonia*, *Staphylococcus*, *Vibrio* and *Yakonella*. The bacterial biodiversity observed was high, although low in number .*

Palabras Clave:

aguas mineromedicinales
bacteriología
balnearios
microbioma
aguas termales
Ecuador

Keywords:

Mineromedicinal waters
bacteriology
spa; microbiome
thermal waters
Ecuador.



1. INTRODUCCIÓN

La utilización del agua mineral natural como medicamento se viene haciendo en el mundo desde hace siglos. La primera publicación sobre este tipo de agua se debe a Savoranola, quien en 1498 publica la obra "De Balneis et Thermis", considerado el primer tratado sobre las aguas mineromedicinales. De igual forma aparecen los tratados de Brancaloneo (1498), Adria (1536) y Fallopio (1546). Posteriormente, en 1571, Andrea Badius recoge en su libro "De Termis" las características y efectos de las aguas mineromedicinales, considerada una de las más importantes obras sobre el tema (1,2,3)

La primera publicación en el idioma español que se conoce sobre las aguas mineromedicinales fue realizada por el catedrático de la Universidad de Alcalá de Henares, Limón Montero, en el año de 1697, quien define en ese escrito lo que en ese momento se llegó a denominar agua mineromedicinal (4).

Para Limón Montero, el agua mineromedicinal era aquella que recibe extrañas virtudes de los minerales que la conforman y es utilizada como medicamento (4). Esta definición se mantuvo hasta que la hidrología médica, como resultados de las investigaciones científicas realizadas, logró establecer los principios científicos que sustentaron las nuevas definiciones sobre las aguas mineromedicinales.

En España, el catedrático de la Universidad Complutense de Madrid, Dr. Manuel Armijo define las aguas mineromedicinales como aquellas que brotan de una fuente y pueden ser utilizadas directamente en terapias dado a que son reconocidas por los entes nacionales de salud como verdaderos medicamentos (5).

Las aguas mineromedicinales son utilizadas en Asia y en Europa desde hace siglos con fines terapéuticos en establecimientos balnearios. En la actualidad, esta forma de tratamiento ha ganado muchos adeptos, constituyendo una floreciente industria en estos continentes.

En Europa, en países como Alemania, España, Francia y Portugal, existe una cultura del uso de las fuentes de agua mineromedicinales con fines curativos, para tratar múltiples enfermedades, incluyendo artritis reumatoide, fatiga muscular, gota, problemas dermatológicos, trastornos circulatorios, digestivos, respiratorios y otras afecciones de la salud, todo ello de acuerdo a la composición química de las mismas, lo que ha resultado en una pujante industria de salud, donde cada año acuden miles de personas para buscar alivio a sus diferentes dolencias (6,7).

Uno de los aspectos menos conocidos de las aguas mineromedicinales a nivel mundial, es lo atinente a las características de población microbiana que las habita y sus posibles acciones en el ambiente y la salud.

En España, gracias al trabajo que ha venido desarrollando la comisión de aguas mineromedicinales de la Real Academia Nacional de Farmacia por varias décadas, se tiene un excelente panorama de la composición química y microbiológica de los principales balnearios de aguas mineromedicinales españoles

Sin embargo, en el continente americano, específicamente en los países latinoamericanos, a pesar de que las culturas ancestrales, como la de los aztecas, incas y mayas (camino del Inca), utilizaban las aguas termales de manera cotidiana, hoy en día su utilización como medicamento es limitado, y cuando se utilizan se hace en la mayoría de los casos de una manera empírica sin ningún tipo de rigor médico ni farmacológico. En estos países la mayoría de los estudios se han hecho abordando los aspectos geológicos, físicos y químicos (8,9,10,11,12,13), desconociéndose en la mayoría cuál es la composición microbiológica y propiedades terapéuticas.

El estudio de la microbiología de cada manantial tiene un interés sanitario, ya que una contaminación microbiana puede representar un riesgo para la salud de los agüistas y además nos puede indicar el grado de protección de los manantiales, así como también sus propiedades terapéuticas.

Las aguas mineromedicinales se distinguen por su composición química específica, en donde prevalecen las concentraciones de iones como sulfatos, fosfatos, nitratos, carbonatos, bicarbonatos, entre otras sustancias químicas, seleccionando de esta manera la existencia de especies microbianas capaces de sobrevivir en condiciones extremas de concentración de sal, pH y en algunos casos de temperaturas, lo que las hace particularmente atractivas en el estudio de microorganismos extremófilos con posibles aplicaciones biotecnológicas de interés para las industrias farmacéutica, alimenticia, química e incluso con aplicaciones en la biorremediación de compuestos nocivos para el medio ambiente (14,15,16).

Es por ello que conocer la composición y características de la microbiota presente en las aguas mineromedicinales es importante, no solo por sus implicaciones ambientales y ecológicas en relación con el conocimiento de la composición y función de la biodiversidad microbiana presente, sino también porque tienen repercusiones en la salud de las personas desde dos puntos de vista, por un lado dentro de esta microbiota pueden estar presentes bacterias patógenas que causan enfermedades infecciosas en los usuarios o transmiten genes de resistencia a los antibióticos, y por el otro, también pueden contener bacterias beneficiosas para curar algunos tipos de enfermedades o que producen metabolitos con importantes propiedades biotecnológicas, medicinales o industriales (17,18).

En Ecuador, se puede indicar que existe una gran cantidad de conocimiento ancestral en el uso de aguas termales como una terapia alternativa para curar varios tipos de enfermedades. La presencia de aguas termales asociadas con la presencia de volcanes ha sido utilizada desde la antigüedad por personas de diferentes grupos étnicos que habitan en esta área, que acuden a ellos para aliviar diversas dolencias, y en los últimos años se han convertido en un turismo atractivo (11). Sin embargo, aún se desconoce cuál es la biodiversidad de la mi-

crobiota asociada con la mayoría de estos entornos y su papel y las posibles propiedades ambientales, biológicas y ecológicas.

Los primeros estudios que se han realizado en Ecuador sobre la microbiología de las aguas mineromedicinales han sido llevados a cabo gracias al trabajo de cooperación universitaria entre el grupo de investigación de microbiología del agua de la Universidad de los Andes en Venezuela y los grupos de investigación en microbiología y biotecnología ambiental de la carrera de Ingeniería Ambiental de la Universidad Central del Ecuador (UCE) y el grupo de investigación en microbiología de la carrera de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo (ESPOCH), todo ello gracias al apoyo financiero de la Dirección de investigación y postgrado de la UCE y del Instituto de Investigación de la ESPOCH.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. MATERIALES

2.1.1. Sitio de muestreos

La presente investigación se llevó a cabo en las aguas mineromedicinales del Balneario Urauco en la Parroquia Lloa, perteneciente a la Ciudad de Quito, Provincia de Pichincha a una altitud de 2773 msnm en las faldas del volcán Guagua Pichincha, a 30 minutos de la parroquia Lloa, la misma que pertenece a la ciudad de Quito, Provincia de Pichincha, Ecuador (Ver figura 1).

Esta fuente de agua mineromedicinal es de origen volcánico, de tipo sulfatada, magnésica e hipertermal (9,10).

El balneario de aguas mineromedicinales de Urauco tiene

dos depósitos, el uno forma un manantial natural (Ver figura 2) y el otro una piscina termal con el punto de surgencia del agua termal en el centro de la piscina (Ver figura 3), en cada uno de ellos se estableció un punto de muestreo.

2.1.2. Muestras

Para la toma y transporte de las muestras se siguieron las normas ecuatorianas INEN 2 169-98 y INEN 2 176-98 (19,20).

Las muestras de agua mineromedicinal se recolectaron en dos épocas diferentes del año durante un periodo de dos años.

En cada ocasión, se tomaron 2 muestras de agua de 1 litro, recogidas en recipientes estériles de plástico, los cuales se trasladaron a temperatura ambiente y en la oscuridad al laboratorio, realizándose los análisis microbiológicos antes de las 24 horas.

2.1.3 Medios de cultivo

Los medios de cultivo utilizados se prepararon a partir de las formas deshidratadas suministradas por las casas comerciales o mezclando los constituyentes del medio, de acuerdo con la fórmula correspondiente. Se reconstituyeron con agua destilada y posteriormente se esterilizaron en autoclave 120 °C durante 20 minutos a 15 PSI de presión.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Cuantificación, siembra y aislamiento de bacterias heterótrofas viables

La cuantificación, siembra y aislamiento de bacterias heterótrofas viables se realizó tanto por la técnica de filtración por membrana de 0,22 μm (21). Se utilizó el medio agar R2A (22) y el

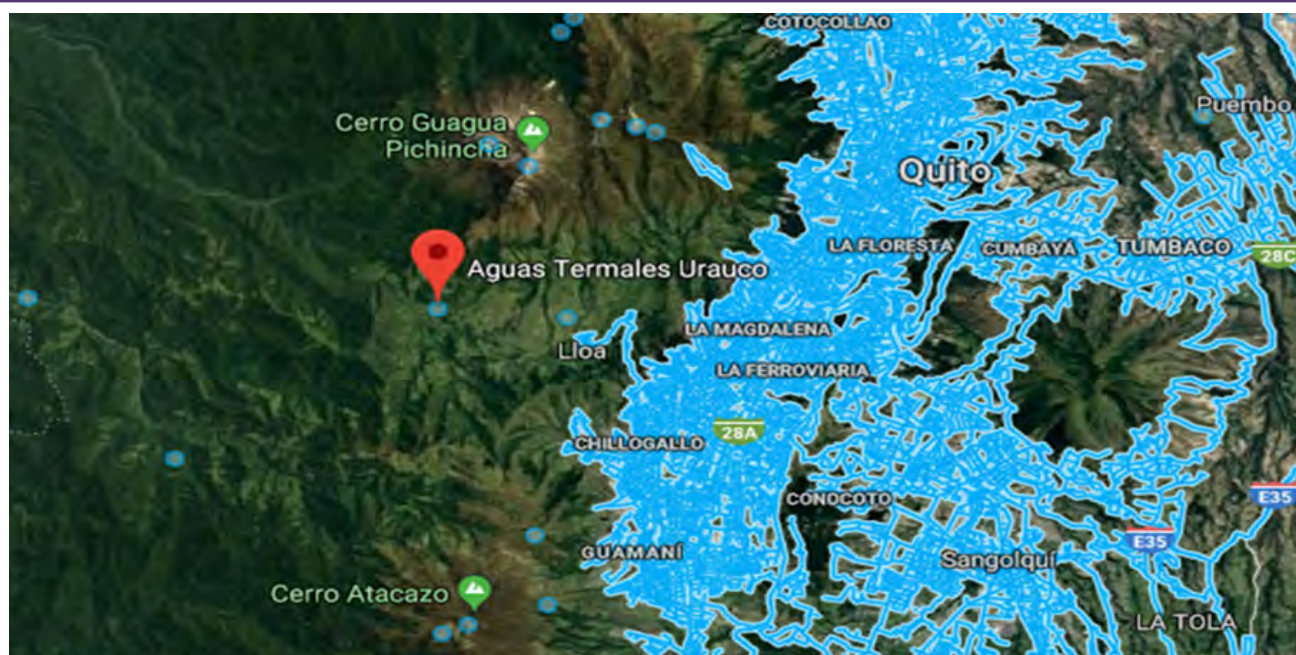


Figura 1. Mapa de la ubicación geográfica del balneario Urauco en la Parroquia Lloa, perteneciente a la Ciudad de Quito, Provincia de Pichincha, Ecuador (Google Maps)



Figura 2. Vista del manantial natural del Balneario Urauco en la Parroquia Lloa, perteneciente a la Ciudad de Quito, Provincia de Pichincha.



Figura 3. Vista del sitio de surgencia del agua termal en la piscina termal del Balneario Urauco en la Parroquia Lloa, perteneciente a la Ciudad de Quito, Provincia de Pichincha.

medio agar extracto de levadura (23), incubando en ambos casos a 37°C durante cuatro días. El volumen de muestra de agua filtrada fue de 100 mL. Los resultados se expresaron como medias aritméticas de las Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/mL). Las colonias más representativas y con morfología diferente se aislaron en agar soya tripticasa (AST) para su posterior identificación (1).

2.2.2. Identificación de bacterias heterótrofas viables

Las colonias aisladas de bacterias se identificaron por características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas. Las pruebas se realizaron según lo indicado por Barrow y Feltham (2004) y MacFaddin (2004), complementadas con las pruebas bioquímicas contenidas en los kit de identificación bacteriana de las galerías API (BioMérieux) y Microgen (Microgen corp.) (24,25).

Entre las pruebas realizadas estuvieron:

Tinción de Gram, morfología de la colonia y producción de pigmento, producción de oxidasa, producción de la catalasa, oxidación-fermentación de la glucosa, observación de la movilidad, crecimiento en medio Kligler, producción de indol, producción de acetil-metil carbinol (Voges-Proskauer), prueba del rojo de metilo, utilización del citrato, producción de ureasa, desaminación de la fenilalanina, reducción de nitratos, producción de gas de la lactosa, hidrólisis de la esulina, crecimiento en agar MacConkey, producción de pigmentos, crecimiento a 42°C ,

observación de la morfología y posición de la espora, hidrólisis del almidón, hidrólisis de la gelatina y crecimiento en agar sangre (24,25).

2.2.3. Criterios de clasificación

Las cepas bacterianas aisladas se han clasificado siguiendo los criterios taxonómicos del Manual de Bergey (26,27,28) y la nomenclatura del Comité Internacional de Sistemática Bacteriana (ICSB) y publicadas en el *International Journal of Systematic Bacteriology*.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han analizado diferentes muestras de aguas termales desde el punto de vista microbiológico mediante métodos estandarizados, utilizando cultivo, cuantificación, aislamiento e identificación taxonómica de bacterias. Los resultados obtenidos en la cuantificación e identificación de las bacterias y hongos presentes en las aguas estudiadas se resumen en las tablas 1 y tabla 2.

3.1. CUANTIFICACIÓN, SIEMBRA Y AISLAMIENTO DE BACTERIAS HETERÓTROFAS VIABLES

Se encontró que la cantidad de bacterias aerobias mesófilas promedio en el manantial natural fue de 4.60×10^2 UFC/mL, mientras que en el punto de surgencia dentro de la piscina termal estas bacterias se encontraron en menor cantidad con un valor promedio de 1.60×10^2 UFC/mL, al promediar los datos anteriores se registró que el total promedio de bacterias aerobias heterótrofas en el balneario Urauco fue de 3.1×10^2 UFC/mL, tal como se detalla en la tabla 1.

Los ambientes de las aguas mineromedicinales presentan microorganismos adaptados a las condiciones adversas de temperatura. Así, los dos puntos analizados en el balneario Urauco presentan una considerable cantidad de bacterias heterótrofas, pero con diferencias significativas en cada punto analizado. Al observar la tabla 1 la diferencia de bacterias aerobias mesófilas entre el manantial natural del agua termal (4.6×10^2 UFC/mL) y el punto de emergencia dentro de la piscina (1.6×10^2 UFC/mL) es de $3,0 \times 10^2$ UFC/mL. Esta diferencia se pudo deber a la ubicación y características de cada punto de recolección de las muestras, en el caso del manantial, el agua estaba acumulada y tenía contacto directo con el suelo, vegetación y fauna del lugar, a diferencia de la piscina donde la muestra se recolectó del punto de surgencia que se encuentra dentro de la piscina y está protegido.

Los resultados obtenidos en el conteo de bacterias heterótrofas en las aguas mineromedicinales del balneario "Urauco" son inferiores a los indicados para aguas mineromedicinales de otro balneario ecuatoriano, como lo es el balneario "Santagua de Chachimbiro", ubicado en la Provincia de Imbabura, en donde se señala una población de bacterias heterótrofas promedio de $1,00 \times 10^3$ UFC/mL (29), así como a los obtenidos para las aguas del balneario Cununyacu ubicado en la provincia de Pichincha, donde se obtuvo valores de bacterias heterótrofas de $1,875 \times 10^3$ UFC/mL (30).



Las diferencias antes señaladas son indicativas de que cada agua mineromedicinal es única, ello debido a que las características fisicoquímicas de cada manantial condicionan la sobrevivencia y proliferación de población bacteriana autóctona que se ha adaptado a través del tiempo, a las condiciones reinantes en este ecosistema (31).

Según el boletín oficial de Canarias N° 38, de 1989 orden que regula el régimen técnico sanitario de piscinas, se establece que la cantidad de bacterias aerobias heterótrofas totales debe ser menor a 200 UFC/mL, en cuyo caso el balneario Urauco estaría fuera del límite permitido. La diferencia es que el balneario Urauco no solo está formado por una piscina sino también por un manantial natural y ninguna normativa se ha establecido en Ecuador para este tipo de agua (32).

bacterias crecidas en el medio de cultivo utilizado, se realizó la identificación de cada una de las colonias bacterianas, los resultados se resumen en la tabla 2.

Al analizar la tabla 2, se puede señalar que la mayoría de las cepas bacterianas identificadas fueron bacterias Gram negativas (62,5 %) pertenecientes a la clase gamma proteobacterias, estando representadas las bacterias Gram positivas en menor porcentaje (37,5 %) y con la prevalencia entre ellas de la clase firmicutes.

En relación con las bacterias Gram negativas, se pudo identificar un total de 40 cepas que resultaron pertenecer a 17 especies, prevaleciendo las especies *Aeromonas caviae* (9 cepas) y *Pseudomonas fluorescens* (5 cepas) (Ver tabla 2)

En el caso de las bacterias Gram positivas se logró aislar un total de 24 cepas pertenecientes a 9 especies, donde prevalecieron las especies *Bacillus spp* (5 cepas) y *Staphylococcus saprofiticu* (4 cepas)

Parámetro	Manantial natural				Punto de surgencia de la piscina			
	M1	M2	M3	M4	M1	M2	M3	M4
Bacterias heterótrofas (UFC/mL)	4,1x10 ² ±6,02	5,2x10 ² ±9,5	2,0x10 ² ±13,5	7,1x10 ² ±1,53	1,3x10 ² ±1,0	2,0x10 ² ±2,5	1,6x10 ² ±5,5	1,3x10 ² ±1,0
Contaje promedio por punto de muestreo (UFC/mL)	4,6x10 ² ±7,63				1,6x10 ² ±2,5			
Contaje promedio en					3,1x10 ² ±5,1			

Muestras: M1; M2. M3. M4

UFC/mL: Unidades Formadoras de Colonias /mililitros

Tabla 1. Resultados promedios del contaje de bacterias heterótrofas viables presentes en el agua mineromedicinal del balneario "Urauco. Provincia de Pichincha. Ecuador.

Por otra parte, si comparamos los valores obtenidos en la cuantificación de las bacterias heterótrofas, con los obtenidos en otros países, como es el caso de España, donde se han estudiado una gran cantidad y variedad de balnearios mineromedicinales, podemos observar que, en la mayoría de los casos, los valores indicados en este trabajo son mayores a los encontrados en las aguas mineromedicinales españolas (33,34,35,36). Ello pone de relieve el hecho de que, en España, los acuíferos y las condiciones sanitarias de estas aguas, reciben un control fisicoquímico y microbiológico más estricto, además de contar con normativas para su control (31).

3.2. IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS HETERÓTROFAS VIABLES

Luego de la cuantificación y aislamiento de las colonias de

(Ver tabla 2).

Los resultados obtenidos en cuanto al porcentaje de bacterias Gram negativas y Gram positivas en las aguas termales del balneario de Urauco son similares a los obtenidos para la mayoría de los manantiales de aguas termales del Ecuador, donde se ha observado un claro predominio en estos ecosistemas de las bacterias Gram negativas (36,37,38,39).

Jacho (2015) en una investigación realizada en las aguas termales del Balneario Rumiloma de la Parroquia Guangopolo Provincia de Pichincha de Ecuador, indica la prevalencia en esas aguas de bacilos Gram negativos con un 73 % de aislamiento (40), resultado similar al observado en el presente estudio.

En un estudio realizado por Flores (2011), en aguas mineromedicinales del balneario Santa Apolonia, ubicado en Mérida Ve-



Tabla 2. Clase, géneros y especies de bacterias identificadas en las aguas mineromedicinales del balneario "Urauco". Provincia de Pichincha. Ecuador

Tipo de bacteria	Clase de bacteria	Especie bacteriana	Numero de cepas	Porcentaje de aislamiento (%)
Bacterias Gram negativas	4	17	40	62,5
	Gamma proteobacteria	<i>Aeromonas caviae</i>	9	14,06
	Gamma proteobacteria	<i>Aeromonas salmonicidas sup. salmonicida</i>	3	4,69
	Beta proteobacteria	<i>Acidovorax delafieldii</i>	1	1,56
	Alfa proteobacteria	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	2	3,13
	Gamma proteobacteria	<i>Budvicia aquatica</i>	1	1,56
	Gamma proteobacteria	<i>Citrobacter freundii</i>	3	4,69
	Gamma proteobacteria	<i>Edwardsiella tarda</i>	1	1,56
	Gamma proteobacteria	<i>Ewingella americana</i>	1	1,56v
	Bacteroidete	<i>Flavobacterium aquatile</i>	1	1,56
	Gamma proteobacteria	<i>Proteus vulgaris</i>	3	4,69
	Gamma proteobacteria	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	3	4,69
	Gamma proteobacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	3,13
	Gamma proteobacteria	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	5	7,81
	Gamma proteobacteria	<i>Psychrobacter immobilis</i>	1	1,56
	Beta proteobacteria	<i>Ralstonia metallidurans</i>	2	3,13
	Gamma proteobacteria	<i>Vibrio alginolyticus</i>	1	1,56
	Gamma proteobacteria	<i>Yokonella regensburgei</i>	1	1,56
Bacterias Gram positivas	2	9	24	37,5
	Firmicutes	<i>Bacillus spp</i>	5	7,81
	Actinobacteria	<i>Corynebacterium aquatycus</i>	1	1,56
	Firmicutes	<i>Enterococcus durans</i>	1	1,56
	Firmicutes	<i>Enterococcus faecium</i>	3	4,69
	Firmicutes	<i>Kurthia gibsonii</i>	1	
	Actinobacteria	<i>Micrococcus luteus</i>	3	4,69
	Firmicutes	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	4,69
	Firmicutes	<i>Staphylococcus saprofiticu</i>	4	6,25
	Firmicutes	<i>Staphylococcus xylosus</i>	3	4,69

nezuela, se indica que en estas aguas prevalecen las bacterias Gram negativas sobre las bacterias Gram positivas (41). Similar resultado se observa en el agua del manantial mineromedicinal del balneario La Mitisús, ubicado de igual manera en Mérida Venezuela (42)

En el caso de los estudios microbiológicos realizados a las

aguas mineromedicinales españolas, se ha indicado también que en la mayoría prevalecen las bacterias Gram negativas (35,36,43,44).

En todos los estudios de microbiología de las aguas de balnearios anteriormente descritos predominaron los bacilos Gram negativos al igual que en el balneario de aguas termales Urauco, lo cual



podiera explicarse por la versatilidad metabólica que exhiben las bacterias Gram negativas que le permiten sobrevivir en ecosistemas oligotróficos mesotermes (31,45).

Respecto a los resultados obtenidos en la identificación de las especies bacterianas aisladas, se puede señalar que el manantial es un ambiente con una gran diversidad biológica debido a la variedad de géneros y especies encontradas prevaleciendo entre ellas las bacterias de la clase gamma proteobacterias (Ver tabla 2).

Dentro de las bacterias pertenecientes a la clase gamma proteobacterias aisladas, destaca la presencia del género *Aeromonas* quien se aisló en mayor frecuencia y proporción en la piscina y en las aguas del balneario Urauco en general (Ver tabla 2).

Especies del género *Aeromonas* se han aislados en diversos manantiales de aguas termales mineromedicinales de Ecuador, España y en otros lugares del mundo (33,37,42,46).

Entre los trabajos realizados en el Ecuador donde se han aislados especies de *Aeromonas* de manera preponderante, resalta el realizado por Maca en el año 2015 en aguas termales del balneario ecológico "Santa Ana", ubicado en el cantón Baños de Agua Santa de la provincia de Tungurahua. En este estudio se pudo aislar e identificar las especies *Aeromonas eucrenophila*, *Aeromonas media*, *Aeromonas schubertii* y *Aeromonas caviae*, en los diversos puntos de muestreos analizados (47).

Los miembros del género *Aeromonas* son bacterias cuyo hábitat principal son los ecosistemas acuáticos de agua dulce y saladas. Estas bacterias se han indicados que pueden infectar a los organismos acuáticos, así como a humanos, donde se le considera como un patógeno oportunista (48).

Otros de los géneros bacterianos pertenecientes a la clase de las gamma proteobacterias identificados en las aguas termales del balneario Urauco fueron *Budvicia*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Ewingella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Vibrio* y *Yakonella* (Ver tabla 2).

Los géneros antes mencionados pertenecientes a la clase de las gamma proteobacterias han sido aislados en diversos tipos de ecosistemas acuáticos, tanto de aguas dulces como de aguas minerales naturales y termales en diferentes lugares del mundo (1,30,36,37,42,45).

En Ecuador Ibaza en el año 2018 señala la presencia de bacteria de los géneros *Aeromonas*, *Budvicia*, *Citrobacter*, *Ewingella*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter* en las aguas termales del balneario de "Santagua de Chachimiro" en la Provincia de Imbabura. Resultado muy similar al obtenido en la presente investigación (29).

Las bacterias del género *Vibrio* han sido observadas como parte de la microbiota autóctona en diversos manantiales de aguas mineromedicinales ya que resisten una elevada osmolaridad dado a que poseen complejos mecanismos de regulación interna (49).

En relación con la especie de bacterias Gram negativas de los géneros *Acidovorax* y *Brevundimonas* perteneciente a las alfa proteobacterias y beta proteobacterias, respectivamente, las cuales se aislaron también de las aguas termales del balneario Urauco, se puede indicar que las mismas se han aislado de otros manantiales de aguas minerales termales, tanto de Ecuador, España y Venezuela (29,37,42,50).

En el caso de *Acidovorax delafieldi*, anteriormente conocida como *Pseudomonas delafieldi*, es una bacteria comúnmente aislada del suelo y en ocasiones del agua, así lo demostraron Guobin y colaboradores en el año 2005, aislando esta bacteria a partir de las muestras de aguas residuales del campo petrolífero Shengli en China (51).

Con respecto a las bacterias Gram positivas encontradas en el agua termal del balneario Urauco, destaca la prevalencia de microorganismos pertenecientes a la clase firmicutes, con los géneros *Bacillus*, *Enterococcus*, *Kurthia* y *Staphylococcus*, seguidos de individuos de las clases de Actinobacterias con los géneros *Corynebacterium* y *Micrococcus* (Ver tabla 2).

Las bacterias Gram positivas son más comunes en aguas hipertermales, aunque también se han aislados en aguas mesotermes e incluso hipotermes (31,45).

En el estudio de las aguas termales del balneario "Santa Ana" de Baños de Agua Santa, perteneciente a la provincia de Tungurahua, se logró identificar bacterias Gram positivas de los géneros *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Kurthia* y *Staphylococcus* (38), resultados similares a los que se pudo identificar en el presente trabajo.

De igual forma, en el estudio de la biodiversidad microbiana de las aguas termales "Santagua de Chachimiro" en la Provincia de Imbabura, se logró aislar e identificar de bacterias Gram positivas de las especies *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thuringiensis* y *Micrococcus lylae* (29), resultado coincidente con el obtenido en las aguas del balneario Urauco.

En cuanto al género *Bacillus*, estas bacterias provienen del suelo de donde pasan al agua, aunque son más comunes en aguas hipertermales también crecen en aguas meso termales como es el caso del agua del Balneario Urauco y han sido también señaladas en aguas mineromedicinales mesotermes de España (17,33,34,35,36).

Bacterias del género *Bacillus* se han involucrado en procesos biotecnológico de producción de metabolitos con diversas aplicaciones biotecnológicas e industriales, lo cual sería de mucho interés económico (14,15,16).

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio microbiológico evidencian que el agua termal del balneario Urauco, ubicado en la Provincia de Pichincha Ecuador, presenta una cantidad moderada de bacterias heterótrofas lo cual estaría indicando potenciales proble-



mas de protección de los acuíferos y de contaminación microbiana por parte del medio ambiente circundante.

Por otra parte, la presencia de bacterias Gram negativas de la clase gamma proteobacterias indican que en Ecuador también se observa, como en España y otros países latinoamericanos, la prevalencia de este tipo de microorganismos en las aguas mineromedicinales mesotermales.

Se ha logrado obtener la identificación de 64 cepas de bacterias pertenecientes a 26 especies dentro de 20 géneros bacterianos, lo cual indica una alta biodiversidad bacteriana para las aguas del balneario Urauco.

En el futuro inmediato, debe llevarse a cabo la metagenómica de estos ecosistemas, así como la construcción de una colección de cultivos para la conservación y mantenimiento de cepas microbianas aisladas, así como el diseño de metodologías para el uso de estos microorganismos en la biorremediación y procesos biotecnológicos.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias al financiamiento obtenido por parte de la Dirección de Investigaciones de la Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador a través del proyecto No. 11 y del Instituto de Investigaciones de la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, Riobamba-Ecuador.

6. REFERENCIAS

1. Andueza, F. (2007). Diversidad Microbiana de las Aguas Mineromedicinales de los Balnearios de Jaraba. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, España.
2. Sánchez Granjel, L. (1981). La medicina española antigua y medieval. Ed. Universidad de Salamanca. Salamanca. España
3. Rodríguez, L. (1995). Estudio histórico bibliográfico del termalismo. Ed. Diputación Provincial. Orense. España.
4. Limón Montero, A. (1697). Espejo cristalino de las aguas de España. Alcalá de Henares. Reproducción facsímil. Ed. Instituto Geológico y Minero de España. Madrid.
5. Armijo, M. (1968). Compendio de Hidrología Médica. Ed. Científico Médica. Barcelona. España.
6. Armijo, M; San Martín, J. (1994). Curas balnearias y climáticas: talasoterapia y helioterapia. Editorial Complutense. Madrid. España
7. De la Rosa, MC.; Mosso, MA. (2004). Historia de las aguas mineromedicinales en España. Observatorio medioambiental. N.º 7: 117-137.
8. Álamo, F. (1893). Aguas minerales y termales de Venezuela. El Cojo Ilustrado, Caracas. Vol. 2 (40): 296-300.
9. Burbano, N., Becerra, S., y Pasquel, E. (2013). Aguas termo minerales en el Ecuador. INAMHI. Quito. Ecuador.
10. Carrera, D.; Guevara, P. (2016). Fuentes termales del Ecuador. Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE). Quito. Ecuador.
11. Maldonado-Eraza, C.P., Álvarez-García, J., Del Río-Rama. M.C., & Durán-Sánchez, A. (2017). Ruta del agua-Yaku Nambi en la Amazonia Ecuatoriana. *Tourism and Hospitality International Journal*, 9(2): 87-112.
12. Gianfaldoni, S.; Tchernev, G.; Wollina, U.; Rocca, M.; Fioranelli, M.; Gianfaldoni, N.; Lotti, T. (2017). History of the Baths and Thermal Medicine. *Maced. J. Med. Sci.* Vol. 5(4): 566-568.
13. Villegas, M. (2018). Medicina ancestral como recurso para potenciar el desarrollo del turismo de salud y bienestar: caso comunidad Shuar, Ecuador. Tesis pregrado. Universidad de Guayaquil. Guayaquil. Ecuador.
14. Ramírez, N.; Serrano, J.; Sandoval, H. (2006). Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 37 (3): 56-71.
15. Medina-Ramírez, G.; Naranjo, K.; Escobar, S.; Araque, J.; Djabayan, P.; Andueza, F. (2017). Microbiota extremófila y resistomas ambientales de la fuente termal "Termas La Merced". Quito. Ecuador. FIGEMPA: Investigación y desarrollo. Vol. 2 (7): 33-38.
16. Viviano, F.; Medina, L.; Ramos, N.; Anaís, L.; Valbuena, O. (2011). Degradación de celulosa por bacterias de aguas termales de Las Trincheras, Venezuela. *Rev. Latinoam. Biotechnol. Amb. Algal.* Vol. 2 (1):18—29
17. De la Rosa, MC.; Andueza, F.; Sánchez, M.; Rodríguez, C.; Mosso, M. (2004). Microbiología de las aguas mineromedicinales de los Balnearios de Jaraba. *Anal. Real Acad. Nac. Farm.* Vol. 7 (extraordinario): 51-74.
18. Andueza, F.; Albuja, A.; Arguelles, P.; Escobar, S.; Espinoza, C.; Araque, J.; Medina, G. (2015). Antimicrobial resistance in strains *Pseudomonas aeruginosa* isolated from termal waters at Chimborazo, Ecuador. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia.* Vol. 81(2): 158-163.
19. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Norma. NTE INEN 2169, (2013) Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito. Ecuador.
20. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Norma NTE INEN 2176, (2013) Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito. Ecuador.
21. American Public Health Association (APHA), (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st Edition, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC.
22. Reasoner, D.J.; Geldreich, E. (1985). A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 49: 1-7.
23. Boletín Oficial de Estado Español (2003). Real Decreto 140/2003 de 7 de febrero sobre Criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. Gobierno de España. BOE 45: 7228-7245.
24. Barrow, G.; Feltham, R. (2004) Manual for the identification of medical bacteria. Edición 3, Cambridge University Press. Cambridge. UK.
25. MacFaddin, J. (2004). Pruebas Bioquímica individuales. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3a ed. Buenos Aires-Argentina. Médica Panamericana.



26. Sneath, P.H.A.; Mair, N.S.; Shape, M. and Holt, J. (1986). *Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology*. Vol. II. Ed. Williams & Wilkins. Baltimore. USA.
27. Holt, J.G.; Krieg, N.; Sneath, D.; Slaley, J.; Williams, S. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ed. Williams & Wilkins. Baltimore. USA.
28. Garrity, G.; Brenner, D.; Krieg, N.; Staley, J. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Ed. Volume Two: The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilon proteobacteria. Springer. New York. USA.
29. Ibaza, D. (2018). Biodiversidad microbiana de las aguas termales "Santagüa de Chachimbiro" en la Provincia de Imbabura: Búsqueda de microorganismos con propiedades biotecnológicas. Tesis de pregrado. Escuela de Ingeniería Ambiental. Facultad FIGEMPA. Universidad Central del Ecuador. Quito. Ecuador.
30. Talavera, Andrea. (2019). Biodiversidad microbiana de las aguas termales del balneario Cununyacu y sus posibles propiedades Biotecnológicas. Trabajo de titulación pregrado. Carrera de Ingeniería Ambiental. Universidad Central del Ecuador. Quito. Ecuador.
31. De La Rosa, M.C.; Mosso, M.A. (2000). Diversidad microbiana de las aguas minerales termales. En: *Panorama actual de las aguas minerales y minero-medicinales de España*, pp. 153-158. Ed. A. López y J.L. Pinuaga. Instituto Tecnológico Geominero de España. Madrid. España.
32. Gobierno de Canarias (1989). *Boletín Oficial de Canarias* No. 38. Pp: 532-538. Canarias. España.
33. De la Rosa, M.; Pintado, C.; Rodríguez, C. y M. Mosso, (2009). Microbiología del manantial mineromedicinal del Balneario Alicún de las Torres. *Rev. Anal. Real Acad. Farm.* Vol. 75 (E): 763-780.
34. Mosso, M.; Sánchez, M. y M. De La Rosa, (2006). Microbiología del agua mineromedicinal de los Balnearios Cervantes. *Anal. Real Acad. Farm.* Vol. 73 (E): 285-304.
35. De la Rosa, C.; Pintado, C.; Fernández, V.; Rodríguez, C. (2017). Microbiología del aguamineral del Balneario de San Nicolás. *Anal. Real. Acad. Farm.* Vol. 83, (Special Issue): 63-78.
36. De la Rosa, C.; Fernández, V.; Pintado, C.; Rodríguez, C. (2018). Microbiología del agua mineromedicinal del Balneario de Paracuellos de Jiloca. *An.Real.Acad.Farm.* Vol. 84, (Special Issue): 68-80.
37. Naranjo, C. (2015). Estudio Microbiológico del manantial termal del Balneario "Termas La Merced" ubicado en la parroquia La Merced perteneciente a la provincia de Pichincha. Tesis pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador
38. Andueza, F.; Jacome, A.; Cortez, S.; Medina, G.; Arciniegas, S.; Parra, Y.; Araque, J. (2018). Microbiota del agua termal del balneario "Piscinas El Cachaco", Calacalí, Provincia del Pichincha. Ecuador. *Anal. Real. Acad. Farm.* Vol. 84 (4): 247-254
39. Sacoto, D. (2019). Microbiota del agua termal del balneario Ilaló en la Provincia de Pichincha-Ecuador y sus propiedades Biotecnológicas e Industriales. Trabajo de titulación. Universidad Central del Ecuador. Quito. Ecuador
40. Jacho, K. (2015). Estudio microbiológico del manantial termal del Balneario Rumiloma de la parroquia Guangopolo perteneciente a la provincia de Pichincha. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador
41. Flores, S. (2012) Aislamiento, identificación y detección de microorganismos con actividades biológicas procedentes de las aguas de los manantiales termales, La Mitisus y Santa Apolonia del Estado Mérida. Tesis de Maestría. Postgrado de Química de medicamentos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela.
42. Gutiérrez, MG.; Andueza, F.; Araque, J.; Lugo, A.; Chacón, Z. (2018). Caracterización microbiológica y potencial biotecnológico de microorganismos aislados de las aguas termales de la Musuy, Municipio Rangel del Estado Mérida. Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. Vol. 38 (1): 27-32.
43. De la Rosa, M.; Sánchez, M.; Rodríguez, M. & M. Mosso, (2007). Microbiología del manantial mineromedicinal del Balneario Puente Viesgo. *Anal. Real Acad. Farm.* Vol. 73: 251-265.
44. De la Rosa, M.; Pintado, C.; Rodríguez, C. & M. Mosso, (2009). Microbiología del manantial mineromedicinal del Balneario Alicún de las Torres. *Anal. Real Acad. Farm.* Vol. 75 (E): 763-780.
45. Leclerc, H.; Da Costa (2004). *Microbiology of natural mineral waters*. In: *Technology of Bottled water*. 2th Ed. (Ed. Senior and Dege). Blacwell. Publishing. Boston. USA.
46. Andueza Leal, F.; Aguirre, M.; Arciniegas, S.; Parra, Y.; Escobar, S.; Medina, G.; Araque, J. (2018). Calidad bacteriológica del agua de los manantiales termales del balneario "Santa Ana" Cantón Baños, Tungurahua, Ecuador. *Rev. Perspectiva*. Vol. 19 (4), 2018: 529-53.
47. Macas, P. (2015). Estudio microbiológico de las aguas termo-minerales del Balneario "Santa Ana" de Baños de Agua Santa-Tungurahua. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador
48. Gonçalves, R.; De Oliveira, W.; Santa Clara, D.; Dos Santos, M.; Matoso, E.; De Carvalho, M.; Barroso, L. (2019). The genus *Aeromonas*: A general approach. *Microbial pathogenesis*. Vol. 130: 81-94.
49. Zabala, A.; Quiñonez, E.; Vázquez, C. (2005). La vida oscura del *Vibrio alginolyticus*. *Revista digital universitaria*. Vol. 6 (4): 3-7.
50. Pal, D.; Kaur, N.; Sudan, S.; Bisht, B.; Krishnamurthi, S.; Mayilraj, S. (2018). *Acidovorax kalamii* sp. nov., isolated from a water sample of the river Ganges. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* Vol. 68 (5): 1719-1724.
51. Guobin, S.; Jianmin, X.; Chen, G.; Huizhou, L.; Jiayong, C. (2005). Bio-sulfurization using *Pseudomonas delafieldi* in magnetic polyvinyl alcohol beads. *Letters in Applied Microbiology*. Vol. 40: 30.



11. DECLARACIÓN DE TRANSPARENCIA.

El autor/a de este artículo declara no tener ningún tipo de conflicto de intereses respecto a lo expuesto en el presente artículo.

Si desea citar nuestro artículo:
Félix Andueza Leal; Judith Araque; Et. al.
Bacterial biodiversity in mineromedicinal waters of spa
"urauco". Pichincha. Ecuador.
An Real Acad Farm (Internet).
An Real Acad Farm Vol. 86. Nº 1 (2020) · pp. 19 - 28